Die
Makrosporen und das weibliche Prothallium
von
Selaginella.

Inaugural-Dissertation

der

hohen philosophischen Facultät der Universität Rostock

zur

Erlangung der Doctorwürde

vorgelegt von

Ernst Heinsen
aus Glücksburg.

Sonderabdruck aus „Flora oder allg. Bot. Zeitung“ 1894, Heft 3.

München
Druck von Val. Höfling, Kapellenstrasse Nr. 3
1894.

Die
Makrosporen und das weibliche Prothallium
von
Selaginella.

Inaugural-Dissertation

der

hohen philosophischen Facultät der Universität Rostock

zur

Erlangung der Doctorwürde

vorgelegt von

Ernst Heinsen
aus Glücksburg.

Sonderabdruck aus „Flora oder allg. Bot. Zeitung“ 1894, Heft 3.

München
Druck von Val. Höfling, Kapellenstrasse Nr. 3
1894.

Referent: Prof. Dr Falkenberg.

Einleitung.

Der genetische Zusammenhang der höheren Pflanzen mit den Gefässkryptogamen wird bekanntlich durch die heterosporen Lycopodiaceen, insbesondere durch die Gattung Selaginella vermittelt. Die Untersuchungen von Mettenius, Hofmeister, Pfeffer und Anderen haben dieses nahezu in erschöpfender Weise dargethan. Den genannten Forschern war es indessen nicht gelungen, die Entwickelung der Makrosporen der Selaginelleen, von ihren ersten Anfängen bis zur Reife, in allen Einzelheiten klar zu legen. Die Untersuchungen stammen sämmtlich aus einer Zeit, in der die technischen Hilfsmittel für die mikroskopischen Untersuchungen pflanzlicher Objecte noch sehr der Vervollkommnung bedurften.

Auf Anregung des Herrn Prof. Dr. Falkenberg unterzog ich daher die genannten Makrosporen einer eingehenden Untersuchung unter Zuhilfenahme der neuesten technischen Methoden. Die Resultate dieser Arbeit, die manches ganz Neue und manches von den Angaben der älteren Autoren Abweichende ergeben hat, sollen in Nachfolgendem besprochen werden.

Die Ergebnisse der bisherigen ausführlichsten Untersuchungen über die Entwickelung der Makrosporen sind bekanntermassen durch Pfeffer in der Abhandlung: „Entwickelung des Keimes der Gattung Selaginella“ [1]) niedergelegt worden. Da nun die Resultate meiner Beobachtungen vielfach zu den Pfeffer'schen Ergebnissen im Gegensatz stehen, so möchte ich vor Allem seine diesbezüglichen Ansichten in Kürze besprechen.

---

1) Vergl. Botanische Abhandlung aus dem Gebiet der Morphologie und Physiologie. Herausg. v. Hanstein. Heft 4, pag. 19—32.

Bei den Makrosporen von Selaginella befindet sich unterhalb des Sporenscheitels, der Innenfläche der Intine anliegend, ein Zellgewebe von meniskenförmiger Gestalt, das hier vollständig endogen entstandene Prothallium.

Dasselbe soll nach Pfeffer's Ansicht bei Selaginella Martensii in der Mitte meist aus drei übereinander gestellten Zellen bestehen, seitlich soll dessen Zellzahl auf zwei und mit oder auch unmittelbar vor den keilförmig auslaufenden Randzellen auf eine herabsinken. Die dem Sporenraum angrenzenden Zellwände, behauptet Pfeffer, sind verdickt und schliessen gleichsam zu einem Diaphragma zusammen.

Ueber den Inhalt der Makrosporen von Selaginella lepidophylla spricht sich Pfeffer dahin aus, dass bei den Sporen, die kaum ein Viertel ihrer endlichen Grösse erreicht haben, der Intine eine sehr dicke Protoplasmaschicht aufgelagert sei. Diese soll einen klaren, wasserhellen Inhalt umschliessen, in welchem ein grosser Zellkern liegt.

Nach den Untersuchungen dieses Forschers sammelt sich unterhalb des Scheitels der Spore, dem Wandprotoplasma angelagert, jedoch nicht recht scharf von demselben abgegrenzt, eine meniskenförmige Schicht Protoplasma, welche das Licht allem Anschein nach schwächer als jenes bricht. Etwas weiter entwickelte Sporen konnte Pfeffer an dem ihm zu Gebote stehenden Material nicht finden.

Aus dem Umstande, dass bei noch nicht völlig ausgewachsenen Sporen das Prothallium zwar schon vielzellig ist, die volle Zellzahl des Reifezustandes aber erst durch wiederholte Theilung in tangentialer und radialer Richtung erreicht wird, schliesst Pfeffer, dass, zusammengehalten mit dem von ihm beschriebenen jugendlichsten Entwickelungsstadium, das Prothallium wahrscheinlich ähnlich wie bei Marsilia durch wiederholte Zelltheilung einer Protoplasmamasse entsteht.

Wie bekannt, reissen etwa sechs bis sieben Wochen nach der Aussaat die grossen Sporen längs den Scheitelkanten auf, zugleich wölbt sich das Prothallium merklich aus der Exine hervor. Die Volumenzunahme des von der Intine umschlossenen Raumes ist offenbar eine wesentliche Ursache des Aufspringens der äusseren Sporenhaut.

Pfeffer glaubt nach seinen Untersuchungen annehmen zu dürfen, dass das Prothallium, noch ehe dieses geschieht, seine Zellzahl durch radiale und tangentiale Theilung vermehrt habe und erst jetzt die Bildung einiger Archegonien beginne, und dass ausserdem im übrigen Sporenraum eine Neubildung von Zellen sich entwickele.

Pfeffer behauptet des Weiteren, dass sich etwa 14 Tage vor dem Aufspringen der Sporen ein Theil der Proteïnkörner mit der

fettreichen Grundmasse zu einem trüben Protoplasma vermenge, in welchem die noch übrigen geformten Proteïnkörner vertheilt wären. Nach seiner Meinung bilden sich um diese Zeit unter dem das Prothallium abgrenzenden Diaphragma sphärische Ballen. Während die Formirung derselben fortschreitet, sollen sich die erstgebildeten mit einer Cellulosemembran, die sofort mit dem Diaphragma in Continuiät tritt, umkleiden.

Die mit resistenter Membran umkleideten Zellen älterer Sporen schildert Pfeffer als in einzelnen Fällen allseitig freiliegend, jedoch bald in Verband tretend. Die sphärischen Massen erklärt er als freigebildete Primordialzellen, von denen er, da die so ungemein trübe Inhaltsmasse eine klare Beobachtung verhindert, nicht sagen kann, ob sie einen Zellkern besitzen, wenn ihm auch die Existenz eines solchen mehr als wahrscheinlich ist.

Von der Zellbildung in dem Theil der Spore, der nach der Aussaat mit sphärischen Ballen erfüllt ist, sagt Pfeffer schliesslich, dass zuerst eine über das ganze Diaphragma gelagerte Zellschicht erscheine, und von dieser die Neubildung der primordialen Zellen sowohl als auch deren Umkleidung mit fester Membran, in manchen Fällen an allen Punkten mit gleicher Geschwindigkeit nach der Basis der Spore hin ausrücke. Die erste Bildung des Endosperms lässt Pfeffer, der dem fraglichen Gewebe diese Bezeichnung gegeben, ziemlich eiligen Schrittes vor sich gehen und schliesst hieran seine Ansicht, dass bei dem Aufreissen der Exine meistens die Hälfte des Sporenraumes unterhalb des Diaphragmas mit Zellgewebe erfüllt sei.

Da die Ursache, die Pfeffer zu den eben genannten, vielfach nicht ganz richtigen Resultaten gelangen liess, wohl besonders in der damaligen noch unvollkommenen Untersuchungsmethode zu finden ist, und da auch das gewöhnliche Einbettungsverfahren späterer Forscher bei der Makrosporenuntersuchung von Selaginella nicht zweckentsprechend ist, so musste dasselbe daher in manchen Punkten dem Objecte gemäss modificirt werden.

Aus diesen Gründen müssen wir auf die Einzelheiten des von mir angewandten Einbettungsverfahrens etwas näher eingehen. Meinen Untersuchungen legte ich Mikrotomschnitte von $^1/_{200}$ bis $^1/_{300}$ mm zu Grunde.

Einbettung.

Die grosse Zartheit der zu beobachtenden Objecte liess es rathsam erscheinen, verschiedene Fixirungsmethoden zu versuchen. Der Erfolg zeigte, dass von den in Anwendung gebrachten Mitteln Essigsäure,

Pikrinsäure, Jodwasser und Chromessigsäure insofern mangelhafte Resultate ergaben, als häufig das Plasma der Spore collabirte. Dieser Uebelstand wurde indessen gänzlich vermieden durch eine 10 Minuten dauernde Einwirkung von einer Mischung aus 1,0 g Chromsäure, 0,4 g Osmiumsäure und 0,4 g Essigsäure mit 200 g Wasser, oder eine drei Minuten dauernde Einwirkung einer 1proc. Sublimatlösung. Mit gleich gutem Erfolge wandte ich ein zweimaliges schnelles Eintauchen in kochendes Wasser an. Zur Einbettung gelangten erstens die fertilen Sprossspitzen, dann die reifen, ausgefallenen Sporen und endlich eine Aussaat derselben. Das Entwässern der Sporen geschah in bekannter Weise durch successive Einwirkung von Alkohol mit anfangs sehr geringem, später immer zunehmendem Procentgehalt. Nachdem schliesslich das Material 24 Stunden in absolutem Alkohol gelegen, wurde der absolute Alkohol erneuert, und das Object der Einwirkung desselben nochmals 24 Stunden ausgesetzt. Hierauf wurde das Material mit wasserfreiem Aether und darauf mit Chloroform in derselben Weise behandelt. Die Anwendung des Aethers empfiehlt sich, weil die Sporen in Chloroform sonst schwer zum Untersinken zu bringen sind. Gebraucht man statt Chloroform Xylol, so wird die vorstehende Uebertragung von Alkohol in Aether überflüssig. Das Xylol bezüglich Chloroform sättigte ich in der Kälte mit Paraffin; nach ein bis zwei Tagen fügte ich zu der kaltgesättigten Lösung so viel Paraffin hinzu, als sich bei einer Temperatur von 58° lösen wollte.

Da das Paraffin schwer durch das Makrosporangium dringt, so half ich mir in Fällen, wo die Grösse desselben die Möglichkeit zuliess, dadurch, dass ich die Sporangienwand mit einer Präparirnadel durchstach. Die allerjüngsten Stadien sind wieder leicht permeabel. Daher gelang es mir, von sämmtlichen Altersstufen gut mit Paraffin durchtränkte Objecte zu erhalten. Nach frühestens fünf Tagen waren die Sporen vom Paraffin durchdrungen. Eine Beschleunigung in diesem Einbettungsverfahren oder ein kürzeres oder längeres Einwirken der oben genannten Fixirungsmittel ergab ungünstige Resultate. Als Aufklebemittel der Mikrotomschnitte kamen theils Celloidin mit Nelkenöl, theils Quittenschleim zur Anwendung, je nach der Natur der anzuwendenden Reagentien.

I. Das Plasma der Spore.

Schon Hofmeister fand in seinen „Vergleichende Untersuchungen der höheren Kryptogamen“, dass sich im Makrosporangium von Sela-

ginella eine einzige Zelle in vier Special-Mutterzellen theilt. Aus diesen gehen dann die vier Makrosporen hervor, die ihre Scheitel einander zukehren. Bei allen von mir untersuchten Arten — Selaginella Martensii, — lepidophylla, — Willdenowiana, — denticulata, — apus, — erythropus, — helvetica, — serpens, — Douglasii, — glauca und pilifera — konnte ich die Angaben Hofmeister's bestätigen. In keinem Fall und bei keiner der von mir untersuchten Arten fand ich drei Sporen, wie Spring in seiner „Monographie de la famille des Lycopodiacees" anführt.

Betrachten wir nun die einzelnen Sporen näher, so finden wir, dass schon in den jüngsten Stufen eine Sporenhülle [1]) von einem Sporeninhalt zu unterscheiden ist. Beide machen einen plasmaartigen Eindruck, beide werden durch Plasmatinctionsmittel, insbesondere durch Anilinblau, gleich lebhaft gefärbt; trotzdem ist eine Verschiedenheit unverkennbar, da sie durch einen schmalen, dunklen Saum von einander getrennt sind. Der plasmatische, homogene und farblose Inhalt enthält an der Stelle, wo sich später der Scheitel der Spore befindet, einen Kern, der in diesem Stadium etwa ein Sechstel des ganzen Sporeninnenraumes einnimmt. [2]) In der Mitte dieses Kernes ist eine grosse Vacuole vorhanden, ausserdem enthält er noch einen oder zwei grosse Nucleolen, von denen jeder ein oder zwei Körperchen in sich birgt, über deren Natur ich keine Klarheit gewinnen konnte. Um den Kern mit seinen Einzelheiten deutlich zur Anschauung zu bringen, wandte ich als Färbemittel Essigcarmin, Haematoxylin und Methylgrün mit Erfolg an; weniger günstig erwies sich die Benutzung von Saffranin, da dieses sowohl das Plasma als auch die Sporenhülle mitfärbte. Sehr schöne Doppelfärbung erreichte ich durch die P. Mayer'sche Carminlösung und eine Nachbehandlung der Schnitte mit einer alkoholischen Lösung von Anilinblau. Bei diesem Verfahren färbt sich das Plasma nebst seiner Sporenhülle, welche durch die Carminlösung nicht tingirt werden, blau, wohingegen die hochrothe Färbung des Kernes unverändert bleibt. In dem Kern heben sich die Nucleoli durch stärkere Färbung deutlich ab und in diesen wieder die zuvor erwähnten Körperchen, so dass innerhalb des Kernes eine dreifache Farbenabtönung, jede durch scharfe Ränder von der anderen getrennt, zu erkennen ist.

---

1) Ich spreche hier und später noch öfter von einer „Sporenhülle", da Exine und Intine erst später auftreten und verschieden hiervon sind.

2) Figur 1, 2 und 3k.

Bei etwas weiter vorgeschrittenen Sporen ändert sich das Aussehen des Plasmas, dasselbe bekommt jetzt eine netzartige Struktur, zahlreiche Hohlräume treten auf. Diese Hohlräume schienen bei den Sporen, welche behufs Paraffin-Einbettung in der oben angegebenen Weise mit Alkohol behandelt worden waren, nach Entfernung des Paraffins inhaltsleer. Ein Vergleichsversuch mit Material, welches nur kurze Zeit mit schwachem Alkohol behandelt worden war, ergab mit Osmiumsäure eine Schwärzung innerhalb der Hohlräume. Es ergibt sich daraus, dass der Inhalt der Hohlräume aus Fetten und Oelen besteht.

Mit dem zunehmenden Alter der Spore wird das Plasmanetz beständig weitmaschiger; die Hohlräume erweitern sich; schliesslich verschwindet das trennende Plasmanetz und die gesammten Hohlräume fliessen zu einer einzigen fetterfüllten Vacuole zusammen. Das gesammte Plasma befindet sich jetzt nur an der Sporenwandung. Es liegt derselben gleichmässig an und zeigt nur in der Scheitelregion eine grössere Mächtigkeit. Während dieses Vorganges hat sich der Kern, sowie auch seine Einschlüsse, bedeutend vergrössert. Gleichzeitig mit dem Auftreten des rein wandständigen Plasmas zeigen sich an Stelle des einen grossen zwei kleinere Kerne; auch sie liegen am Scheitel der Spore, dort wo der Plasmabelag eine grössere Stärke aufweist. Umgeben sind die beiden neugebildeten Kerne von dichterem Plasma. In keinem Falle gelang es mir, mit Sicherheit eine Kerntheilungsfigur nachzuweisen, doch fand ich den Scheitelkern des Oefteren langgestreckt, so dass eine Theilung, ähnlich derjenigen der Chlorophyllkörner, durch Einschnürung und nachfolgendes Auseinanderfallen nicht unwahrscheinlich wird. Die Tinctionen, die ich in dieser Entwickelungsstufe anwandte, ergaben dieselben Resultate wie die früheren. Anilinblau färbte das Plasmanetz und den späteren Plasmabelag ebenso intensiv wie zuvor; die Kerne wurden durch die P. Mayer'sche Lösung, Essigcarmin, Haematoxylin und Methylgrün gefärbt.

Die Weiterentwickelung der Spore geschieht hierauf in der Weise, dass der Plasmabelag, besonders in der Scheitelregion, bedeutend an Mächtigkeit zunimmt. Ausserdem tritt hier eine Vermehrung der Kerne und die erste freie Zellbildung auf. Mit dem Heranreifen der Spore bilden sich im Innern derselben Proteïnkörner; diese sind bald in so grosser Anzahl vorhanden, dass der ganze Innenraum der Spore mit ihnen vollgepfropft ist. Die grosse Masse derselben erschwert es, einen klaren Einblick in die Weiterentwickelung der Spore zu erhalten. Anfänglich gelang es mir nicht, mich über die

Anzahl der Kerne und deren Lagerungsort zu vergewissern, denn sowohl Essigcarmin wie auch Saffranin und Haematoxylin färbten die Proteïnkörner äusserst stark. Da auch das Methylgrün unsichere Bilder ergab, so versuchte ich durch Pepsinverdauung diese Hindernisse zu beseitigen. Zu diesem Zweck wandte ich eine Lösung von 1,0 Pepsin in 3,0 Wasser und 0,2 Salzsäure an. In dieser liess ich die Schnitte bei einer Temperatur von 50° zwei Stunden liegen. Eine Einwirkung von dieser Dauer zerstörte die Proteïnkörner fast gänzlich, ohne die Kerne viel zu schädigen. Die Resultate, die ich auf solche Weise erzielte, waren überraschend günstig. Zu der Zeit, wo die Proteïnkörner aufzutreten beginnen, ist der ganze Innenraum der Spore mit einem zarten Plasmanetz durchzogen, ähnlich demjenigen, welches die ölgefüllten Hohlräume umschloss, jedoch engmaschiger. Bei ungenügender Verdauung zurückgebliebene Proteïnreste liessen deutlich erkennen, dass jedes einzelne Korn von einer dünnen Plasmaschicht umgeben ist. Am Scheitel der Spore, in der Region der freien Zellen, deren jede einen Kern besitzt, werden die Proteïnkörner durch erheblich dickere Plasmaschichten getrennt. Daraus ergibt sich, dass in gleichen Flächenräumen die Zahl der Proteïnkörner in der Scheitelregion verringert erscheint.

Zellkerne sind ausschliesslich in der oben erwähnten Schicht vorhanden, im übrigen Sporenraum fehlen sie gänzlich. Dass der körnige Inhalt der Spore wirklich aus Proteïn besteht, konnte ich auch durch Millon's Reagens nachweisen.

Nachdem nun in dieser Stufe die Existenz und Lage von Kernen und Zellen in Folge der Pepsinverdauung klargelegt war, blieb mir noch übrig, nach Zellwänden innerhalb des Sporenplasmas zu suchen. Schon sehr bald kann das erste Auftreten von zarten Zellmembranen nachgewiesen werden, da die Cellulosereaction (Jod mit Schwefelsäure und Chlorzinkjod) durch die Pepsineinwirkung nicht beeinträchtigt wird. Die ersten Anfänge von Zellwandbildung zeigen sich als schwache Streifen in nächster Nähe der Sporenwand, und zwar treten sie hier zunächst als Radialwände (einer einzigen Zellschicht am Sporenscheitel) auf. Allmählich bilden sich dann Tangentialwände, denen sich wiederum neue Radialwände anfügen.

Auf diese Weise schreitet die Ausbildung der Zellen vom Scheitel der Spore aus progressiv nach dem Innern derselben vor. Es braucht wohl nicht besonders bemerkt zu werden, dass allemal der Membranbildung das Auftreten von Kernen in der entstehenden Zelle vorausgeht.

Bei allen von mir untersuchten Sporen der Selaginellen — es sind dieses die theils oben erwähnten, Selaginella Martensii, — lepidophylla, — Willdenowiana, — denticulata, — erythropus, — serpens und glauca — fand ich schon beim Ausfallen der Spore ein beträchtliches Zellgewebe in denselben vor. Die Entstehung desselben beginnt, wie schon gesagt, an dem Scheitel der Spore und schreitet von hier aus allmählich in's Innere derselben vor. Die Zellwandbildung scheint im Allgemeinen mit dem Alter der Spore gleichen Schritt zu halten. Ich fand an demselben fertilen Spross in den jüngeren, schon Proteïn enthaltenden Sporen zuweilen wenige Zellreihen, zuweilen aber auch schon eine bedeutende Anzahl derselben, in den darunter sitzenden älteren häufig schon den ganzen Sporenraum mit Zellgewebe ausgefüllt. Ich spreche hier nicht von freien, sondern mit Membran umgebenen Zellen, deren Cellulose sich mit Chlorzinkjod und Jod mit nachfolgender Schwefelsäure nachweisen liess. In derselben Weise, wie es schon Pfeffer erwähnt, sah ich die Zahl der Zellreihen von der Mitte aus nach der Sporenhülle zu abnehmen. Die Randzellen verlaufen keilförmig.

Die Cellulosereagentien vor der Pepsinbehandlung ergaben nur geringen Erfolg. Obwohl die Reaction hin und wieder eintrat, konnte ich kein deutliches Bild von den Lagerungsverhältnissen der Zellwände erhalten. Ganz vorzügliche Präparate bekam ich hingegen mit Chlorzinkjod bezw. Jod mit Schwefelsäure, wenn das Object zuvor durch Pepsinverdauung von den Proteïnkörnern befreit worden war. Bringt man hiernach die Schnitte auch noch in eine Carminlösung nach P. Mayer, so erhält man ein sehr anschauliches mikroskopisches Bild, indem die tiefroth gefärbten Kerne von den durch Chlorzinkjod blaugefärbten Zellwänden umschlossen werden. Je näher die Kerne dem Scheitel der Spore zu liegen, je älter also die Zelle, desto kleiner sind sie. In dem Raum, in welchem noch keine Zellwandbildung stattgefunden hat, sind auch keine Kerne vorhanden.

Aeusserst interessant zeigte sich die Zone, wo das Zellgewebe an den zellfreien Theil der Spore angrenzt. Hier sieht man besonders grosse, oft langgestreckte Kerne liegen; dieselben werden oft glockenartig in der Weise von den Zellwänden umschlossen, dass das offene Ende dem mit Proteïnkörnern angefüllten Innenraum zuliegt. Auch hier gelang es mir nicht, Kerntheilungsfiguren aufzufinden. Das gänzliche Fehlen derselben, die Längsstreckung der Kerne, die oft in der Mitte eingeschnürt erscheinen, wie auch das häufige nahe Aneinanderliegen von zwei oder drei Kernen, lässt es auch hier wie in

dem zuvor erwähnten jüngeren Stadium der Spore, wo dieselbe nur einen Scheitelkern enthält, wahrscheinlich erscheinen, dass die Vermehrung der Kerne durch einen einfachen Zerfall derselben erfolgt. Zum Vergleich untersuchte ich auch die vegetativen Theile von Selaginella, und zwar speciell die Sprossspitzen. Auch hier fand ich oft langgestreckte, bisquitartig geformte Kerne, auch hier lagen häufig zwei oder drei Kerne fast sich berührend neben einander, aber niemals kam mir eine Kerntheilungsfigur zu Gesicht.[1])

Die Kerne, welche aus dem einen grossen Scheitelkern hervorgehen, werden mit jeder neuen Theilung, die sie erfahren, auch kleiner.

Die Proteïnkörner, die in der zuvor erwähnten Entwickelungsstufe regellos vom Plasmanetz umschlossen waren,[2]) schliessen sich in der folgenden Phase ballenartig zusammen.

Das Auftreten der Zellwände bedingt eine Gruppirung in einzelne Haufen. Schon vor dem Gebrauch von Pepsin fiel mir die Regelmässigkeit dieser zu grossen Klumpen vereinten Proteïnmassen auf. — Ein eigenartiges Bild lieferten dicke Mikrotomschnitte bei kurzer Pepsineinwirkung und nachfolgender Cellulosereaction. Aus den angeschnittenen Zellen war das Proteïn entfernt; ihre Zellmembranen traten deutlich hervor, während die unverletzten Zellen das vorher geschilderte undeutliche Bild ergaben. Nicht minder interessant berührte der Anblick solcher Schnitte, bei denen ausserdem noch die Tinctionsmittel Essigcarmin oder Saffranin angewandt worden waren. Die Proteïn enthaltenden Zellen waren durchaus roth gefärbt und liessen keinerlei Differenzirung erkennen, dagegen waren die hiervon befreiten Zellen, bis auf den lebhaft gefärbten Kern, farblos.

Um mir auch Klarheit über die weiteren Veränderungen der so beschaffenen Sporen, nach einer Aussaat derselben, zu verschaffen, wurden Makrosporen und Mikrosporen unter Beachtung der erforderlichen Vorsichtsmassregeln auf Torf und Fliesspapier ausgesäet. Zur Aussaat gelangten Sporen von Selaginella Martensii, — lepidophylla,

1) Das gänzliche Fehlen von Theilungsfiguren legt die Vermuthung nahe, dass die Kerntheilung möglicherweise nur während der Nacht vor sich gehe, wie von einigen Algen behauptet worden ist. In Folge dessen sammelte ich auch während der Nacht von Stunde zu Stunde Sprossspitzen sowohl wie Makro- und Mikrosporen ein, ohne meinen Zweck, Theilungsfiguren aufzufinden, zu erreichen. Ich wurde dadurch in meiner oben erwähnten Ansicht über die Art der Theilung nur bestärkt.

2) Fig. 9 y.

— apus, — Willdenowiana, — helvetica und glauca, und zwar wurden jeden zweiten Tag Sporen von der Aussaat aufgenommen und in derselben Weise wie die fertilen Sprossspitzen, und die aus denselben ausgefallenen reifen Sporen behandelt.

An dieser Stelle will ich es nicht versäumen, nebenbei eine Beobachtung zu erwähnen, die von der lang anhaltenden Keimfähigkeit der Selaginellen-Makrosporen Zeugniss ablegt. Nachdem ich von den ursprünglich ausgesäeten Sporen stets die keimenden Grossen-Sporen fortgenommen und mich dann nach vier Wochen langem Warten davon überzeugt hatte, dass keine weiteren Sporen gekeimt hatten, setzte ich der alten Aussaat neue Mikrosporen hinzu. Nach Verlauf von acht Wochen hatten abermals viele Makrosporen gekeimt. Dasselbe Beginnen wurde jetzt von mir wiederholt. Auf diese Weise habe ich mich davon überzeugen können, dass die Makrosporen der genannten Selaginella-Aussaat jedenfalls noch nach $1^1/_2$ Jahr keimfähig sind.

Komme ich nun auf die Veränderung der Grossen-Sporen, welcher dieselben nach der Aussaat unterworfen sind, zurück, so sei zunächst erwähnt, dass mich alle Mikrotomschnitte, die durch die ausgesäeten Makrosporen gelegt wurden, überzeugten, dass die Weiterentwickelung derselben hauptsächlich in einer Zellvermehrung in dem Sporenplasma besteht. Zugleich ist aber auch eine Grössenzunahme der ganzen Spore zu bemerken. Die jüngsten Zellen, sei es nun, dass sie vor oder nach der Aussaat gebildet wurden, erscheinen immer sehr gross und rundlich. Erst später, wenn dieselben durch das Auftreten tangentialer und radialer Wandungen in kleinere Zellschichten zerlegt worden sind, haben sie eine eckige Gestalt angenommen.

Bei meinen genauen Untersuchungen über die Entstehung der Zellmembranen fand ich niemals isolirte Zellen.

Neue Zellwandbildung tritt nur dort ein, wo schon ältere Zellen vorhanden sind.

Wie schon früher angegeben wurde, ist der Verlauf der Zellwandbildung in der Spore derartig, dass die erste Zellschicht am Scheitel entsteht und sich an sie nach und nach, und zwar der Basis der Spore zu, weitere Zellen anfügen. Dieser Vorgang ist jedoch nicht so aufzufassen, als ob die ganze Spore zunächst nur mit grossen, runden Zellen ausgefüllt würde und diese erst hernach durch tangentiale und radiale Wände in kleinere getheilt würden, sondern vielmehr so, dass zugleich mit der fortschreitenden Bildung neuer grosser Zellen auch bereits die älteren in kleinere zerlegt werden.

Bei den ausgesäeten Sporen, deren Inneres im Zusammenhang mit der Mutterpflanze schon gänzlich mit Zellgewebe ausgefüllt war, findet nur eine Zerlegung der grossen Zellen in viele kleinere statt.

Es sind also in allen Fällen die Zellen in der Scheitelregion stets kleiner als die im Innern der Spore gelegenen, doch ist die Grössenzunahme zu diesen hin eine ganz allmähliche. In vereinzelten Fällen fand ich bei Sporen, in denen sich der junge Embryo schon entwickelt hatte, einen geringen Theil der unteren Spore frei von Zellgewebe. Das Fehlen der Zellwände constatirte ich auch hier durch das Ausbleiben der Cellulosereaction, während dieselbe in dem anderen Theil der Spore mit Genauigkeit eintrat. Auch in diesen Fällen suchte ich nach Kernen, konnte aber weder mit noch ohne Anwendung von Tinctionsmitteln einen Kern auffinden, so dass ich auch hier wieder festzustellen vermochte, dass die Kerne in den Makrosporen der Selaginelleen nur im Zellverbande vorkommen und an Zellbildung gebunden sind. Ob für die Weiterentwickelung des Keimlings immer eine gänzliche Ausfüllung der Spore mit Zellwänden erforderlich ist, habe ich nicht verfolgen können.

Jedenfalls sind die Archegonien in den Sporen, die nicht völlig mit Zellwänden ausgefüllt sind, befruchtungsfähig. Eine erste Archegonienanlage habe ich bei den meisten von mir untersuchten Selaginelleen-Arten bereits kurz vor der Trennung der Spore von der Mutterpflanze beobachten können.

Die Archegonien gehen aus den oberflächlichen, am Scheitel der Spore gelegenen, kleinen Zellen hervor; sie sind von den sterilen Nachbarzellen durch ihre Grösse kaum verschieden, doch ist ihr Inneres sehr plasmareich und mit grösserem Kern versehen. Die Entwickelung der Archegonien wurde bereits von Pfeffer eingehend behandelt. Irgend eine Abweichung in derselben fand ich bei meinen Untersuchungen nicht. In der Mehrzahl fand ich Archegonien nur bei ausgesäetem Material.

Ehe ich von dem Verhalten des Sporenplasmas und dessen Differenzirung von Selaginella auf deren Sporenhülle übergehe, will ich noch bemerken, dass ich in ersterem vergeblich nach einem eigentlichen Diaphragma gesucht habe. Wohl konnte ich in der Spore eine Zellfläche bemerken, die einen oberen Raum deutlich von einem unterem schied. Der obere Raum hebt sich dadurch scharf von dem unteren ab, dass in ihm die Proteïnkörner fast völlig verschwunden sind, während in dem letzteren noch grössere Mengen dieser Substanz vorhanden sind. Die Zone, in der die Zellfläche auftritt, hat eine

veränderliche Lage, mit dem zunehmenden Alter der Spore nähert sie sich immer mehr der Sporenbasis.

Das Plasma in den Zellen, aus denen die Zellfläche zusammengesetzt wird, scheint mit Reservestoffen angefüllt zu sein. Es führt grosse Massen körnigen Inhaltes in sich. Ausserdem fand ich in diesen Zellen häufig kleinere, kreisrunde Gebilde von schwärzlicher Farbe, über deren Beschaffenheit ich keine Aufklärung erhielt. Gegen Tinctionsmittel zeigen sie sich unempfindlich. Meine Vermuthung, dass dieselben zurückgebliebene Oeltröpfchen sein könnten, bestätigte sich nicht.

Die tropfenartigen Gebilde konnten auf keine Weise mit Alkohol oder Aether entfernt werden. Auch unterliess ich es nicht den Inhalt der Zellen, die in dieser Zone liegen, auf eine etwaige Gegenwart von Stärke zu prüfen, doch blieb die Behandlung mit Jod stets ohne Erfolg. Es zeigte sich weder hier, noch in dem übrigen Theil der Spore eine Spur davon.

Die soeben beschriebene Zellfläche, die sich quer durch die ganze Spore zieht, habe ich nur bei solchem Material angetroffen, das längere Zeit als Aussaat gelegen hatte. Eine Verdickung der Wände in den Zellen, welche die besprochene Zellfläche bilden, habe ich nie bemerkt.

Bei den Sporen, die längere Zeit zum Keimen gelegen haben, kann man die Kernfärbemittel ohne Zuhülfenahme von Pepsin wieder in Anwendung bringen. Die mehr und mehr verschwindenden Protoplasmen verringern die Nebenfärbung, die zuvor durch die Eiweisssubstanzen verursacht wurde. Die Kerne treten nach einer Färbung mit Hämatoxylin, besonders in den älteren Zellen, ziemlich deutlich hervor. Immerhin wird aber auch hier das mikroskopische Bild des Präparates entschieden deutlicher, wenn man das Object zuvor der Einwirkung des Pepsins ausgesetzt hat.

Wenn ich die Resultate meiner Untersuchungen jetzt noch einmal mit knappen Worten anführe, so muss ich hier vor allem hervorheben, dass das Sichtbarmachen der Zellwände und Kerne durch die Pepsinbehandlung mir bei meiner Arbeit ein wesentliches, ja unerlässliches Hülfsmittel gewesen ist.

Eigener Befund.

Nach der Entfernung des Protoplasmas durch Pepsinverdauung gelangte ich zu der Ueberzeugung, dass, im Gegensatz zu dem jüngsten Stadium der Makrosporen von Selaginella, in dem das netzartige Sporenplasma die ganze Höhle ausfüllt, und in dem zellwandlosen Plasma

nur ein hervorragend grosser Kern enthalten ist, schon weit vor der Reife der Spore eine bedeutende Anzahl von Kernen vorhanden ist.

Da dieselben mitunter langgestreckt und von bisquitartiger Form sind, auch häufig zwei oder drei von ihnen hart aneinander liegen, so ist es nach meinem Dafürhalten nicht ausgeschlossen, dass die Vermehrung derselben durch ein einfaches Auseinanderfallen bewirkt wird.

Für diese Art der Theilung spricht auch das gänzliche Fehlen von Kerntheilungsfiguren sowohl in den Sporen, wie auch in den vegetativen Theilen der verschiedenen Selaginelleen.

Der einzige grosse Scheitelkern enthält eine Vacuole und zwei Nucleolen, die einen besonderen körnigen Inhalt in sich einschliessen. Die sämmtlich von dem Scheitelkern abstammenden Kerne werden mit jeder Vervielfältigung kleiner.

Die kleinsten Kerne liegen an dem Scheitel der Spore und in den ältesten Zellen.

Die Kerne in den Anlagen der Archegonien sind allerdings um ein Weniges grösser als diejenigen der Nachbarzellen.

Eine Anzahl bedeutend grösserer Kerne, die indessen niemals den Umfang des ursprünglichen Scheitelkernes erreichen, liegt an der Zone, die den zellwandlosen von dem mit Zellwänden versehenen Innenraum der Spore abgrenzt.

Abgesehen von den ersten freien Zellen ist das Vorkommen der Kerne an die Zellwandbildung gebunden.

In den jüngsten Stadien tritt vorübergehend am Scheitel der Spore freie Zellbildung auf. Derselben folgt schon frühzeitig in der noch völlig unreifen Spore das Auftreten von Zellwänden.

Schon vor der Reife der Spore reichen die Zellwände häufig bis an die Basis derselben. Der ganze Sporenraum ist also von ihnen durchzogen.

Das Vorhandensein eines Diaphragmas war nicht zu constatiren. Ebensowenig konnte im inneren Sporenraum das Auftreten isolirter Zellen beobachtet werden.

Die ersten Archegonienanlagen finden sich schon dann vor, wenn die Makrosporen noch mit der Mutterpflanze im engen Zusammenhange stehen.

Wenn ich nun meine Ergebnisse mit den Resultaten Pfeffer's vergleiche, so divergiren dieselben in vielen Punkten. Ich möchte daher die nicht übereinstimmenden Befunde sich hier noch einmal einander gegenüberstellen.

Differenz der Pfeffer'schen und der vorliegenden Untersuchungen.

Aus den angeführten Beschreibungen Pfeffer's geht zunächst hervor, dass ein oberer, als Prothallium von ihm bezeichneter Theil der Makrospore von Selaginella, sich anders in seiner Entwickelung verhalten soll als der untere Raum der Spore, in welchem Pfeffer das Endosperm entstehen lässt. Seine Untersuchungen ergeben, dass in dem von ihm geschilderten meniskenförmigen Plasma eine zunächst nur dreireihige Zellzahl entsteht. Dieselbe ist schon bei der reifen Spore vorhanden, während eine Zellwandbildung im Endosperm erst 14 Tage vor dem Aufspringen der Spore — also lange Zeit nach der Aussaat derselben — erfolgen soll. Erst zu derselben Zeit, wo die Entwickelung des Endosperms beginnt, findet nach Pfeffer eine Zunahme der drei Zellschichten in dem Prothallium statt; dasselbe soll dann sechs- bis siebenschichtig werden[1]). Dem gegenüber habe ich gefunden, dass sich der ganze Inhalt der Spore in durchaus gleichmässiger Weise entwickelt und nicht etwa ein bestimmter Theil in der Scheitelregion sich in bevorzugter und eigenartiger Weise ausbildet. Eine Ruheperiode in der inneren Ausbildung und eine darauf folgende erneute Zellbildung nach dem Aussäen in einem zweiten unteren Theile der Spore vermochte ich ebensowenig aufzufinden.

Ferner gibt Pfeffer als Zeitpunkt für das erste Auftreten der Archegonien die Zeit nach dem Aussäen an. Ich fand hingegen in häufigen Fällen bereits in Sporen, die noch mit der Mutterpflanze in Zusammenhang standen, Archegonienanlagen. Die weitere Ausbildung und das zahlreiche Auftreten derselben fällt allerdings in die von Pfeffer angegebene Zeit.

Jene sphärischen Ballen, von denen Pfeffer in dem Stadium spricht, wo sich die Exine der ausgesäeten Makrosporen dicht vor dem Aufreissen befindet, sind meiner Ansicht nach mit jenen rundlichen Zellen, die mit Proteïnkörnern und einer fettreichen Grundmasse angefüllt sind, identisch. Die in dem trüben Sporeninhalt schon vorhandenen Zellwände sind offenbar von Pfeffer übersehen worden.

Eine weitere Abweichung in meinem Befund ist das Fehlen eines Diaphragmas, welches nach Pfeffer das Prothallium von dem endospermartigen Gewebe trennen soll. Eine derartige Zellschicht mit verdickten Zellwänden, welche die Grenze der beiden genannten Gewebe bilden soll, fand ich nicht. Ich möchte jedoch dieses sogenannte Diaphragma mit der jedesmaligen Grenzschicht der durch

1) Vergl. auch Pfeffer's Entwickelung des Selaginella-Keimes S. 25.

secundäre Theilungen entstandenen, kleinen Zellen gegen die primären grossen Zellen identificiren, zumal die Grenzschicht stets mit der besprochenen Zellfläche zusammenfällt, die sich durch den eigenartigen plasmatischen Inhalt ihrer einzelnen Zellen auszeichnet.

Frei vorkommende Kerne, wie sie Pfeffer in dem noch zellwandlosen Endosperm vermuthet, sind nicht vorhanden. Nur dort, wo die Spore bei der Bildung von Zellwänden begriffen ist oder solche schon geschaffen hat, treten Kerne auf. Für den ersteren Fall möchte ich hier nochmals an die grossen Kerne erinnern, die sich an der Grenzzone des mit Zellwänden versehenen und des zellwandlosen Raumes innerhalb der Intine befinden. Sie bilden gleichsam den Abschluss des kerngefüllten Sporenraumes.

Die Existenz freiliegender Zellen, wie Pfeffer sie vorübergehend im Sporenraum angetroffen haben will, kann ich ebenso wenig bestätigen. Ich glaube mit Bestimmtheit annehmen zu dürfen, dass jene freiliegenden Zellen, die der genannte Forscher gefunden hat, durch den Schnitt oder durch Druck aus ihrem Zellverband herausgerissen wurden.

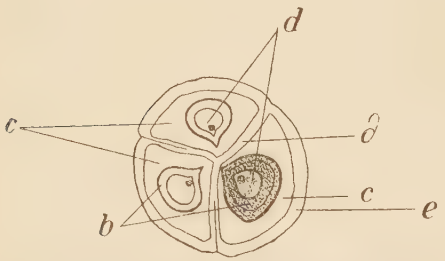
II. Die Sporenmembran.

Mit Absicht liess ich bisher die Sporenmembran ganz unberücksichtigt; diese bietet in ihrer Entstehung und Entwickelung so viel Interessantes, dass ich es für angebracht halte, sie für sich zu behandeln. Schon beim Anfang meiner Arbeit sprach ich von einer Sporenhülle und sagte, dass dieselbe, in den jüngsten von mir beobachteten Stadien, kaum von dem Sporeninhalt zu unterscheiden sei. Legt man in dieser Entwickelungsstufe Mikrotomschnitte durch die fertilen Sprossspitzen von Selaginella-Arten, so zeigt sich in dem gut getroffenen Sporangium sowohl Sporeninhalt wie auch Sporenhülle von plasmaähnlicher Beschaffenheit; beide werden nur durch einen dunkelen Saum von einander geschieden. Aus dieser Sporenhülle, die sich im mikroskopisch betrachteten Schnitt wie ein Ring von Plasma ausnimmt, geht hernach Exine und Intine hervor. Man könnte vermuthen, dass dieser Ring aus der Zellmembran der Specialmutterzelle hervorginge, oder wenigstens in enger Beziehung zu ihr stände: wiederholte, sorgfältige Untersuchungen belehrten mich aber, dass dieser Ring nicht etwa aus der ursprünglichen Specialmutterzellmembran entsteht, sondern ebenso wie der Sporeninhalt lediglich ein Produkt des Plasmas der Specialmutterzelle ist.

Hofmeister äussert sich über die Entstehung der Selaginellen-Makrosporen in seinen „Vergleichende Untersuchungen der höheren Kryptogamen“ in derselben Weise, nur lässt er die entstandenen Sporen die Specialmutterzellmembran völlig ausfüllen.[1])

Durch zahlreiche Beobachtungen konnte ich mich jedoch davon überzeugen, dass die Sporenhülle keineswegs der Special-Mutterzellmembran fest anliegt. Durch diese Erscheinung wird von vornherein der Ansicht, dass die genannte Sporenhülle durch Auflagerung von Substanz auf die Membran der Specialmutterzelle entstehen könnte, der Boden entzogen. Die Sporenhülle entsteht vielmehr im Inhalt der Specialmutterzelle derart, dass eine Plasmaschicht zwischen der letzteren und der Sporenhülle bestehen bleibt. In den jüngsten Stadien bleibt die Spore zunächst noch von dem Plasma und der Membran der ursprünglichen Specialmutterzelle umschlossen, ihr Ursprung ist ein endogener. Man kann also, um noch einmal kurz zusammenzustellen, von Innen nach Aussen folgende Schichten unterscheiden:

1. Plasma mit Kern;
2. schalenartige Sporenhülle (aus Plasma bestehend);
3. äussere Plasmaschale;
4. Membran der Specialmutterzellen;
5. alle 4 Sporen umschliessend, die Membran der Mutterzelle.[2])



Sporenmutterzelle in Specialmutterzellen sich theilend.

1. a) Plasma mit Kern.
2. b) Schalenartige Sporenhülle (aus Plasma bestehend), bei der Spore rechts sich in Exine und Intine trennend.
3. c) Aeussere Plasmaschale.
4. d) Membran der Specialmutterzellen.
5. e) Alle 4 Sporen umschliessend, die Membran der Mutterzelle.

Der äussere Rand der Sporenhülle ist in dieser Entwickelungsstufe noch völlig glatt. Die Spore (Plasmainhalt und Plasmaring), sowie das sie umgebende Plasma mit der Specialmutterzellmembran werden lebhaft von Jod, Anilinblau und Eosin durchdrungen. Die angewandten Tinctionsmittel bevorzugen keinen der genannten Theile durch intensivere Färbung. Chromsäure zerstört nicht nur den Plasmainhalt, sondern auch die plasmaartige Sporenhülle des eben erwähnten Alterszustandes fast momentan, und Osmiumsäure übt nicht die geringste Wirkung auf die

1) Hofmeister Vergl. Untersuchungen höherer Kryptogamen S. 119.
2) Fig. 2.

letztere aus. Plasmareactionen mit Millon's Reagens und einer Zuckerlösung mit nachwirkender Schwefelsäure führten zu keinem Resultat. Ich habe diesem Mangel eine allzugrosse Bedeutung nicht beigelegt, da die Reactionen mit beiden Mitteln schon an sich nicht immer gleichmässig eintreten, wo unzweifelhaft Plasma vorliegt, wie viel leichter kann nicht die Reaction durch die Vorbehandlung der Sporen beeinträchtigt werden!

Sobald die Spore um ein weniges älter geworden ist, hebt sich die Sporenhülle schärfer von dem Sporeninhalt ab, und es beginnt eine erste Andeutung von Differenzirung, insofern als ihre Aussenschicht ein körniges Aussehen angenommen hat, die innere Schicht zeigt hingegen eine feine wellenartige Zeichnung. An der Berührungsfläche dieser beiden soeben beschriebenen, verschiedenartigen Schichten entsteht nun ein feiner Riss, doch scheidet derselbe die ineinander liegenden Ringe anfänglich nicht völlig; beide hängen nämlich durch Verbindungsbalken [1]) zusammen.

Zwischen diesen Verbindungsbalken befindet sich desorganisirte Substanz. Mit der Spaltung der Sporenhülle ist die Unterscheidung zwischen Exine und Intine gegeben, soweit von einem Unterschiede überhaupt die Rede sein kann. Zu derselben Zeit, wo diese Veränderungen in der Sporenhülle auftreten, bemerkt man auch eine Differenzirung in dem Plasma, das die Spore umgibt. Dasselbe ist streifig geworden und zwar füllen die Streifen in radialer Richtung den Raum zwischen Exine und Specialmutterzellmembran [2]). Ihr Aussehen ist strahlenartig. Die Tinctionen, die in diesem Stadium gemacht wurden, verliefen im Ganzen wie die zuvor geschilderten, indem sich immer Plasma, Sporenhülle und Specialmutterzellmembran gleichmässig färbten; eine geringe Abweichung hiervon machte nur das die Sporen umgebende Plasma. Von diesem wurden einzelne Partien der Streifung lebhafter als andere gefärbt und zwar in solcher Weise, dass weniger gefärbte Strahlen mit intensiv gefärbteren abwechseln. Wodurch diese eigenthümliche Erscheinung hervorgerufen wird, habe ich mir nicht erklären können. Auch auf dieser Stufe setzte ich die Sporen den Einwirkungen von Chromsäure und Osmiumsäure aus, ohne wesentlich veränderte Resultate zu erlangen als bei den früheren Versuchen. Alles wurde völlig zerstört, es war noch keine Spur von Cuticularisirung festzustellen. Nur schien es mir, als ob die Zerstörung der äussersten körnigen Schicht der Sporenhülle durch Chromsäure längere Zeit in Anspruch genommen hätte als vorher.

1) Fig. 5, 6 und 10 w.
2) Fig. 4 und 5 c.

Nachdem nun die Trennung zur Exine und Intine einmal eingeleitet ist, verläuft sie sehr rasch weiter derart, dass die Verbindungsbalken zunächst gedehnt werden und dann häufig in der Mitte reissen. Es macht den Eindruck, als wenn sie aus einer dickflüssigen, zähen, leimartigen Masse beständen, die an zwei Seiten, von Exine und Intine festgehalten, durch Auseinanderziehen zerrissen wird. Dieses Auseinanderweichen der beiden Hüllschichten geht aber nicht gleichmässig um den ganzen Sporenkörper vor sich, sondern auch hier finden wir, wie beim Sporeninhalte, ein verschiedenes Verhalten zwischen Scheitel- und Fussregion.

Während beide am Scheitel noch ziemlich innig zusammenhängen, beträgt ihr Abstand an der Basis der Spore etwa die 4—5fache Dicke der Exine. Von hier aus nimmt derselbe allmählich nach der Spitze zu ab, so dass Exine und Intine an den beiden Seiten der Spore nur noch um die 2—3fache Dicke der äusseren Sporenhülle auseinanderweichen. Die gestreckten Verbindungsbalken sind in der Mitte dünner geworden, vereinzelte an dieser Stelle schon zerrissen. Zwischen ihnen befindet sich eine desorganisirte Masse, welche sich von der Exine abhebt und jetzt der äusseren Wölbung der Intine halbmondförmig anliegt [1]).

Es sei hier erwähnt, dass sich die lange, mit sehr viel Makrosporen versehene Aehre von Selaginella lepidophylla besonders gut zum Verfolgen der einzelnen Stadien eignet.

In ähnlicher Weise wie zwischen Exine und Intine scheinen auf dieser Alterstufe der Spore die Trennungsvorgänge zwischen Exine und Special-Mutterzellmembran sich abzuspielen. Man sieht, dass auch hier die zuvor genannten tiefblaugefärbten, strahlenartigen Verbindungsstränge zwischen beiden zerreissen. Ein Unterschied in dem Verhalten einerseits zwischen Exine und Intine und andererseits zwischen Exine und Special-Mutterzellmembran besteht jedoch darin, dass der Ort der Zerreissung ein verschiedener ist. In letzterem Fall findet die Trennung nicht in der Mitte, sondern hart an der Special-Mutterzellmembran statt, die nun stark zu verquellen beginnt [2]).

Färbt man solche Objecte mit Anilinblau, so zeigt es sich, dass die losgelösten Streifen, die für dieses Tinctionsmittel schon vorher sehr empfänglich waren, die Farbe noch begieriger verschlucken. Die erblassenden Streifen werden hingegen mit dem zunehmenden Alter

1) Fig. 5, 6, 7 u. 10 l.
2) Fig. 5.

der Spore dem Auge immer unsichtbarer; stellenweise treten Lücken an ihre Stelle. Dass diese Plasmastreifen von der inneren Spore verwerthet werden, scheint mir nicht ausgeschlossen. Leider ist es mir jedoch nicht gelungen festzustellen, in welcher Art und Weise dieses geschieht. Da indessen die Exine im reifen Zustande porös ist, wie ich hier schon erwähnen will, so darf ich jedenfalls mit Bestimmtheit annehmen, dass die Exine von jenen Plasmastreifen durchsetzt ist.

Während dieser Zeit, in der sich auch das Plasmanetz an die Intine zurückzieht, um hier wandständig zu werden (vergl. pag. 8), wird die Trennung zwischen Exine und Intine eine fast vollständige, nur am Scheitel habe ich niemals eine gänzliche Loslösung feststellen können. Im übrigen Trennungsraum verschwinden die Reste der ehemaligen Verbindungen; man sieht nur hin und wieder noch an der Exine und Intine kleine Hervorragungen; es sieht aus, als ob die zerrissenen Fetzen der Balken von Exine und Intine eingezogen würden. Diese Vorsprünge verlieren sich jedoch bald gänzlich, so dass die sich zuliegenden Ränder der Exine und Intine sehr schnell ein glattes Aussehen annehmen. Dieses Verhalten bestätigt wieder die Annahme einer teig- oder leimartigen Consistenz dieser Gebilde.

Die halbmondförmige, desorganisirte Masse bleibt hingegen noch lange zwischen beiden erhalten. Häufig traf ich dieselbe noch bei unentwickelt gebliebenen Sporen vor, die mit anderen im bereits reifen Sporangium eingeschlossen waren. Die Strukturverhältnisse der Intine sind inzwischen wesentlich anders geworden. Sie gleicht auf dem Querschnitt nicht mehr einem Band von gleichmässiger Beschaffenheit. Ihr äusserer Rand ist körnig geworden und hat viel Aehnlichkeit mit der Exine[1]), während die wellenartige Zeichnung von dem breiteren inneren Theil beibehalten wurde. Es sei an dieser Stelle zugleich bemerkt, dass die Strukturverhältnisse der inneren Intine bei den verschiedenen Species von Selaginella geringe Abweichungen in der Zeichnung aufweisen, während ich eine solche niemals bei der Exine und der äusseren Intine der von mir untersuchten Arten fand. Stets war das Aussehen der beiden letzten ein körniges. Schon bevor die soeben angegebene Verschiedenheit innerhalb der Intine bemerklich wird, kündigt dieselbe ihr Auftreten schon dadurch, an, dass sich der innere Theil des Bandes anders gegen Tinctionsmittel verhält als der äussere. Bei Anwendung der Gram'schen[2]) Färbungsmethode wird

1) Fig. 5, 6 u. 10, i u. i_1.

2) Zimmermann, Botanische Mikrotechnik pag. 145 § 260 u. pag. 180 § 321.

die Exine und die äussere Schicht der Intine bräunlich-violett gefärbt, auf die innere Schicht der letzteren wirkt nur das Eosin ein, dieselbe wird blassroth. Die Lösung von Peters[1]), bestehend aus einer Mischung von Eosin, Methylenblau und Jodgrün, färbt in diesem Stadium die Exine grün, die innere Intine blau, während die äussere Intine eine Mischfarbe aus beiden annimmt. Wir haben hier eine Uebergangsstufe, in der die Exine und die äussere Schicht der Intine zu cuticularisiren anfangen; und zwar beginnt die erstere hiermit etwas früher als die letztere. Ein sehr übersichtliches Bild, in welchem alle Farbennuancen zwischen roth und blau, resp. zwischen blau, grün und roth auftreten, erhält man bei den verschiedenen Altersstufen der Sporen dann, wenn man einen Schnitt durch eine fertile Sprossspitze führt und diesen längere Zeit mit dem Gram'schen — oder Peters'schen Tinctionsmittel behandelt. Die beiden genannten Färbemittel zeigen in sehr hübscher Weise, wie allmählich die Cuticularisirung eintritt. So sehen wir z. B. bei dem Gebrauch des zuerst genannten Gram'schen Tinctionsmittels, dass die ganzen Sporen in den jüngsten Stadien gleichmässig, und zwar intensiv roth, gefärbt werden; bei etwas älteren wird die Exine braun-violett, wohingegen die Intine noch die rothe Färbung beibehält; bei noch weiter vorgeschrittenen Sporen wird Exine und der äussere Rand der Intine braun-violett; die innere Intine von wellenartiger Zeichnung färbt sich schwächer, behält aber die Rothfärbung bei. Mit weiter zunehmendem Alter der Spore wird das Gentianaviolett immer lebhafter von Exine und der äusseren Intine aufgenommen, die Braunfärbung geht nach und nach in Violettfärbung über. Beständig anders als diese beiden verhält sich jedoch die innere Intine, auf sie wirkt stets nur das Eosin ein, sie wird selbst noch bei den Sporen, die lange Zeit ausgesäet waren, roth gefärbt.

Resultate von annähernd gleich gutem Erfolge erhält man mit der Biondi'schen[2]) und Peters'schen Lösung, der ersteren ist jedoch Eosin hinzuzufügen.

In ihrem Verhalten gegen Anilinfarbstoffe zeigen die Exine und Intine der Selaginelleen-Makrosporen grosse Aehnlichkeit mit den Membranen der Pollenkörner höherer Pflanzen. H. Fischer sagt in seinen „Beiträgen zur vergleichenden Morphologie der Pollenkörner“ [3])

1) T. Peters, Untersuchungen über den Zellkern in den Samen S. 27.

2) Gesättigte wässerige Orangelösung 100 ccm, gesättigte Säurefuchsinlösung 20 ccm, Methylgrün 50 ccm.

3) Vergl. H. Fischer S. 3 u. 9.

über deren Exine, dass sie im Allgemeinen das Verhalten der Cuticula zeigt. In ihren Reactionen soll sie jedoch insofern viel Aehnlichkeit mit den Proteïnsubstanzen zeigen, als sie sich mit Jodlösung intensiv braun färbt und gewisse Anilinfarben aus alkoholischer Lösung vorzüglich aufnimmt. Desgleichen sagt derselbe Beobachter, dass sich die Membranen der Pollenkörner durchaus ablehnend gegen die üblichen Kernfärbemittel, wie Methylgrün-Essigsäure, Alaun-Karmin und Haematoxylin verhalten. Daraufhin untersuchte ich die Sporenhülle der p. p. Selaginella-Arten auf ihr Verhalten den genannten Reagentien gegenüber. Hierbei fand ich, dass Fuchsin, Saffranin, Methylenblau, Jodgrün, Malachitgrün, Gentianaviolett und Vesuvin sowohl lebhaft von der Exine als auch von der äusseren Intine verschluckt werden. Merkwürdiger Weise machte von den Anilinfarben das Anilinblau eine entschiedene Ausnahme. Dieses Tinctionsmittel wurde von Fischer nicht angewandt. Das Anilinblau färbte die Sporenhülle nur in den jüngsten Altersstufen der Spore, nur in den Stadien, wo ich dieselbe als Plasmaring bezeichnete. Bei älteren Entwickelungsstufen tritt nicht die geringste Färbung ein. Färbt man daher ältere Sporen mit Anilinblau und hinterher mit irgend einer der anderen genannten Anilinfarben, so zeigt die Sporenmembran stets andere Färbung als der Sporeninhalt. Tingirt man z. B. eine Spore mit Anilinblau und Fuchsin — die beiden Farbstoffe können auch gemischt verwendet werden —, so wird die Exine und die äussere Intine tiefroth, die innere schwachroth, das Plasma in der letzteren aber dunkelblau gefärbt. Jod wird sowohl lebhaft vom Plasma als auch von der Sporenhülle aufgesogen; von diesem Verhalten weicht indessen die innere Intine dadurch ab, dass sie nicht ganz so zugänglich für dasselbe ist. Fischer theilt in seinen ferneren Versuchen über die Beschaffenheit der Pollenkörner mit, dass ihre Exine selbst beim Sieden in Kalilauge unlöslich sei. Auch führt er an, dass die Membran der Pepsinverdauung widersteht; in Eau de Javelle, Chromsäure oder Chromschwefelsäure, jedoch besonders bei Erwärmen der letzteren völlig zerstört wird. Ich fand, dass die Exine und Intine der Makrospore von Selaginella ebenfalls weder von Kalilauge noch von Pepsin vernichtet, von letzterem nicht einmal angegriffen wird, wohingegen meine Resultate, die ich mit den beiden letztgenannten Reagentien erhielt, wesentlich von den Fischer'schen abweichen. Concentrirte Chromsäure nnd Chromschwefelsäure vermögen selbst unter Erwärmen und bei längerem Liegen der Objecte in diesen die Exine und die äussere Intine nicht völlig zu zerstören.

Jedoch werden beide angegriffen, sie nehmen ein ausgeprägt poröses, schwammartiges Aussehen an. Die innere Intine wird jedoch in kürzester Zeit zerstört. Dass die jungen Sporen sofort gänzlich von diesen beiden Mitteln vernichtet werden, wurde schon früher [1]) von mir bemerkt. Ueber die Wirkung von Eau de Javelle erhielt ich keinen endgiltigen Aufschluss. Ob dasselbe die Sporenhülle nur angreift oder schliesslich gänzlich auflöst, habe ich nicht entscheiden können. Wenn ich die Sporenmembran zumal unter Erwärmen mit Eau de Javelle behandelte, so wurde sie dem Auge schnell unsichtbar; wenn ich aber selbst nach langer Einwirkung Mikrotompräparaten Eosin oder Fuchsin zusetzte, so wurde immer wieder Exine und Intine sichtbar.

Strasburger bemerkte, dass Zellhäute, die mit Millon'schem Reagens behandelt wurden, Plasmareaction aufweisen.[2]) Da nun die Grössenzunahme der Exine bei den Makrosporen von Selaginella unter so eigenartigen Verhältnissen stattfindet und dieselbe eher auf ein Wachsthum als auf eine passive Dehnung der äusseren Sporenhülle hindeutet, so unterliess ich es nicht, mit obengenanntem Reagens Versuche auf Eiweissgehalt zu machen. Indessen hatte ich bei den älteren Stadien ebenso wenig Erfolg wie früher bei den jüngeren. Ebenso resultatlos blieb der Gebrauch einer Zuckerlösung mit nachfolgender Schwefelsäure. Trotz dieser Misserfolge, die sich vielleicht durch die Vorbehandlung des Materials erklären liessen, möchte ich die Grössenzunahme der Exine nicht einem Dehnungsprocesse, sondern einer Lebensäusserung der Membran selbst zuschreiben. Meine Vermuthung möchte ich in der Weise begründen, dass ich zunächst die Trennung der Exine von der Intine durch Contraction der letzteren völlig ausschliessen kann. Wäre dieselbe thatsächlich durch eine Contraction verursacht worden, so müsste mindestens in dem Stadium, wo das Auseinanderweichen der beiden Membranen erfolgt ist, ein Moment eintreten, in welchem der Umfang der Intine kleiner wird als zuvor. Ein solcher Fall tritt aber niemals ein, die Intine vergrössert sich im Gegentheil ständig, nur nicht in so schneller Weise wie die Exine.

Nicht minder spricht gegen eine Contraction das Plasmanetz, das immer innerhalb des von der Intine umschlossenen Raumes gut erhalten war. Der Raum zwischen Exine und Intine ist bei normalen Sporen niemals leer, sondern beständig mit einer desorganisirten Masse

1) Seite 18 unten.

2) Strasburger, Zellhäute, 1889, pag. 37 ff.

ausgefüllt. Diese Substanz legt sich erst beim Aelterwerden der Spore, also lange nach erfolgter Trennung der beiden Membranen, an die Intine an. Alle angeführten Thatsachen sprechen entschieden gegen eine Contraction. Ein zweiter Fall, durch den die Grössenzunahme der äusseren Sporenmembran veranlasst werden könnte, wäre in der Möglichkeit zu suchen, dass dieselbe passiv ausgedehnt würde, doch scheint mir auch diese Annahme durch Thatsachen keine Unterstützung zu finden. Wenn die Vergrösserung der Exine auf solche Art vor sich ginge, so müsste dieselbe unbedingt in ihrem Dickenverhältniss verringert werden. Die Exine behält indessen nicht nur ihre Breite bei, sondern nimmt sogar in derselben constant zu. Nachdem also die Annahme einer Vergrösserung der Exine durch Dehnung nicht mehr haltbar erscheint, bleibt mir nur noch übrig, an ein Wachsthum der Membran zu denken. Wenn man auch für die jugendliche Exine und Intine nicht die Möglichkeit einer Art des Wachsthums, wie sie durch die Appositions- bezw. Intussusceptionstheorie erklärt wird, in Abrede stellen kann, so gibt doch weder die eine noch die andere Theorie — für sich oder in Wechselwirkung gedacht — eine einwandsfreie Erklärung der Wachsthumsvorgänge bei der älteren Exine. Die äussere Sporenmembran zeigt nämlich auch noch in dem Stadium ein bedeutendes Wachsthum, wo der schon cuticularisirten Exine weder nach Innen noch nach Aussen eine Plasmaschicht anliegt. Abgesehen vom Scheitel der Spore, wo ja stets Exine und Intine in Contact bleiben und die letztere also gleichsam eine Brücke zwischen dem eingeschlossenen Plasma und der äusseren Sporenhülle herstellt, ist die Exine von jeder Plasmaverbindung abgeschnitten. Ob dieser geringe Zusammenhang, der zwischen dem Plasma und den beiden Sporenmembranen besteht, allein das Wachsthum der Exine in diesem Stadium ermöglicht, scheint mir fraglich. Exine und Intine sind fast in ihrem ganzen Umfange getrennt, von einer Verbindung mit dem Plasma des innersten Sporenraumes kann kaum die Rede sein; ebenso sind die radial verlaufenden Plasmastreifen[1]), die sich in jüngeren Stadien zwischen der Exine und der Special-Mutterzellmembran ausspannten, in dieser Entwickelungsstufe gänzlich verschwunden. Trotzdem zeigt die annähernd isolirte äussere Sporenmembrau ein energisches Wachsthum, und zwar vorzugsweise an ihrer Basis, also in dem Theil der Exine, welcher am weitesten von jener Stelle entfernt ist, wo Plasma, Intine und Exine dicht neben einander liegen.

1) Fig. 4 u. 5c.

Wie ich schon zuvor [1]) erwähnte, ist die Exine in reiferen Stadien cuticularisirt und von schwammartiger, poröser Beschaffenheit!

Diese Thatsachen, in Verbindung gebracht mit dem ebenfalls schon angeführten Verhalten der verschwindenden, strahlenartigen Plasmastreifen, die zwischen Exine und Special-Mutterzellmembran [2]) in den noch jungen Altersstufen der Spore bestanden, sind es vorzugsweise, welche mich der Ansicht Wiesner's [3]) folgen lassen, dass in diesem Fall die Zunahme der Membran in einer selbständigen Lebensäusserung derselben zu suchen ist!

Zugleich verweise ich auch auf die Untersuchungen Strasburger's. [4]) Der genannte Forscher hat sich neuerdings in einigen Fällen für die Einwanderung des Hyaloplasmas in die Membran ausgesprochen.

Die Intine zeigt ursprünglich ein ähnliches Verhalten wie die Exine; auch sie wird zwar langsamer, aber doch beständig breiter. Zu der Zeit, wo sich das Plasma wandständig an dieselbe anlegt und die Exine am weitesten von der Intine entfernt ist, ist der Durchmesser der Intine am grössten und fast um die Hälfte grösser als der Durchmesser der Exine. Bis zu dieser Entwickelungsstufe kann man wohl mit Recht auch bei der Intine von einem eigentlichen Wachsthum reden. Hiernach findet aber eine entschiedene Dehnung derselben statt. Das zunehmende Volumen des Inhaltes in der Intine drückt dieselbe allmählich an die Exine. Bei der Streckung, welche dieselbe hierbei erfährt, wird sie immer dünner. Wenn sie der Exine völlig anliegt, gleicht sie nur noch einem schmalen Häutchen, das aber bei Anwendung von Tinctionen und Reagentien noch immer seine Zusammensetzung aus zwei verschiedenen Schichten erkennen lässt.

Kehre ich nun zu der Entwickelungsstufe, wo in der Spore, abgesehen vom Scheitel derselben, eine völlige Trennung zwischen Exine und Intine eingetreten, gewissermassen also eine kleinere Kugel in einer grösseren aufgehängt ist, zurück, so muss ich einer Beobachtung von Mettenius gedenken. In seinen „Beiträge zur Botanik“ [5]) bei

---

1) Vergl. pag. 21 u. 22.

2) Vergl. pag. 20 u. 21.

3) Wiesner, Untersuchungen über die Organisation der vegetabilischen Zellhaut. Sitzungsbericht der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, 1886, XCIII 1. Abth. S. 17—80.

4) Strasburger, Histologische Beiträge, Jena 1889, Heft II S. 41, 45, 133, 171—174.

5) Vergl. Beiträge zur Botanik. Heft I. Zur Fortpflanzung der Gefässkryptogamen pag. 7 u. 8.

Besprechung der Fortpflanzung der Gefässkryptogamen heisst es über die Makrosporen von Selaginella wörtlich: „In den Sporen, die noch in der Entwickelung begriffen, liegt eine dunkele Kugel, welche die äussere Haut an der Stelle der drei Leisten berührt und mit dem grössten Theil ihres Umfanges frei in die Sporenhülle vorragt, wie man an halbirten Sporen leicht erkennen kann."

Hiernach scheint es mir unzweifelhaft, dass diese dunkele Kugel, von der Mettenius spricht, mit dem von mir beschriebenen, durch die Intine eingeschlossenen Plasma identisch ist. Mettenius spricht von einer aufgehängten Kugel, und ich betone daher hier nochmals, dass sich Exine und Intine am Scheitel nie vollständig trennen. Der angeführte Forscher charakterisirt die Kugelhülle folgendermassen: „Sie wird von einer zarten, amorphen, granulirten Schicht von bräunlicher Farbe, nämlich der inneren Schicht der äusseren Haut und der Sporenzelle, zusammengesetzt. Mit der weiteren Entwickelung dehnt sie sich bedeutender aus, die innere Schicht der äusseren Haut nimmt eine hellere Farbe an, wird durchsichtiger und tritt mit ihrem ganzen Umfange mit der äusseren Schicht in Berührung, von der sie bekanntlich immer leichter als von der Sporenzelle abgestreift werden kann."

Die angeführte Beschreibung verstehe ich so, als ob bei den jüngeren Stadien der Sporen eine äussere Sporenhülle bestände, der dann, von dieser getrennt und die besagte Kugel umgebend, eine zweite innere folgen soll. Diese innere Hülle, die Intine, besteht zunächst aus einer granulirten Schicht und der Sporenzellmembran. Erstere soll mit zunehmendem Alter ihr Aussehen verändern und durchsichtig werden. Die Beobachtung von Mettenius würde also insofern mit der meinigen übereinstimmen, als die Intine aus zwei Schichten zusammengesetzt wird und diese anfänglich getrennt von der Exine auftreten. Annähernd decken sich auch die Angaben von Mettenius über die Beschaffenheit der Sporenhülle mit den meinigen. Die äussere Schicht der inneren Spore soll von granulirter Beschaffenheit sein und dieser dann die Sporenzellmembran folgen. Auch ich sagte schon, dass diese äussere Schicht der Exine gleicht und also granulirt ist. Von dem Aussehen der Membran der Sporenzelle berichtet Mettenius leider nichts. Ich schilderte sie — also die innere Intine — als ein breites Band mit welliger Streifung auf dem Querschnitt. Von der Weiterentwickelung der inneren granulirten Sporenhülle sagt Mettenius, dass dieselbe hell und durchsichtig wird und sich dann der Exine anschliesst. Ich beobachtete, dass die besprochene

Schicht in diesem Zustande lange erhalten bleibt, dann wird sie aber, während sie an Dicke abzunehmen beginnt, ebenfalls hell und durchsichtig. In den reifen Sporen unterscheidet sie sich in ihrem Aeusseren ohne angewandte Tinctionsmittel oder Reagentien kaum von der inneren Intine, bei Anwendung derselben jedoch noch immer auffallend. So tritt z. B. bei einer Prüfung auf Cellulose, sei es mit Chlorzinkjod oder mit Jod und nachfolgender Schwefelsäure, die Reaction mit aller Schärfe bei der inneren Intine ein, nicht bei der äusseren! Die Peters'sche Lösung färbt die äussere Intine grün, die innere hingegen roth; bei Gebrauch des Gram'schen Färbemittels wird die erstere blau, die letztere aber roth. Diese Versuche gelingen mit grösster Genauigkeit auch noch bei solchen Sporen, die lange ausgesäet waren. Sowohl Mettenius wie auch Hofmeister und Pfeffer berichten von dem innigen Zusammenhang, der zwischen Intine und Plasma besteht. Speciell schreibt Mettenius, dass bei dem Herauspräpariren des Endospors die Intine stets leichter von der Exine als vom Plasma zu trennen ist. Mir ist dieses zähe Zusammenhängen der letzteren beiden und das lockere Nebeneinanderliegen der äusseren und inneren Membran bei den entwickelten Sporen um so erklärlicher, da Exine und Intine schon in sehr jungen Stadien fast vollständig in ihrer ganzen Peripherie getrennt von einander auftreten, während Plasma und Intine in allen Altersstufen eng an einander schliessen. Die eigenartige Ansicht von Mettenius, der annimmt, dass sich ein Zellcomplex zwischen Exine und Intine bildet, habe ich mich vergeblich aufzuklären bemüht. Ob diese Zellen, die das primäre Prothallium bilden sollen, vielleicht in irgend einer Weise mit der desorganisirten halbmondförmigen Substanz in irgend welche Beziehung gebracht werden können, muss ich dahingestellt sein lassen. Häufig erinnert allerdings das Aussehen derselben, besonders bei älteren Sporen, an engmaschige Zellen. Bemerkenswerth ist es mir indessen, dass schon Mettenius von zwei Intineschichten spricht.

Fritzsche, Mohl, Meyen und Schacht bemerkten die Existenz einer doppelten Intine. Die angeführten Beobachter fanden dieselbe bei den Pollenkörnern und hier zwar vorzugsweise bei den Coniferen vor. H. Fischer[1]) bestreitet die Richtigkeit dieser Ansicht, er glaubt vielmehr, dass die Resultate dieser Beobachtungen durch Täuschung veranlasst worden sind. Den Irrthum erklärt er

1) H. Fischer, Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Pollenkörner S. 15 unten.

dadurch veranlasst, dass er den einen Theil der Intine für quellbarer als den anderen hält. In anderen Fällen sucht er die innere Intine auf eine Verwechselung mit der hyalinen Hautschicht des Plasmakörpers zurückzuführen. Bei den Makrosporen von Selaginella kann ich die Möglichkeit einer solchen Täuschung leicht zurückweisen. Ich brauche nur an die Strukturverhältnisse der doppelten Intine und an die Fähigkeit der beiden Schichten zu erinnern, dass die äussere andere Farbstoffe aufsaugt als die innere. Den besten Beweis dafür, dass eine Verwechselung der inneren Intineschicht mit einer hyalinen Plasmaschicht des Sporeninhaltes bei meinen Beobachtungen nicht vorliegt, erblicke ich darin, dass, wie schon angeführt, die innere Schicht Cellulosereaction, die äussere hingegen keine ergibt. Ueber Fritzsche, der verschiedenen Oëonothereen vier Häute zuschreibt, sei hierbei endlich noch erwähnt, dass H. Fischer der Meinung ist, Fritzsche sei dadurch zu dieser Ansicht gelangt, weil sich die Exine in zwei Theile gespalten habe und Fritzsche schliesslich den dadurch entstandenen Spalt für eine vierte Membran angesehen habe. Ich untersuchte die Oëonothereen hieraufhin freilich nicht, für die Selaginelleen möchte ich von vornherein einem derartigen Einwurf entgegentreten und noch einmal kurz darauf zurückweisen, dass erstens der grosse Spalt, der bei den Makrosporen von Selaginella zwischen Exine und Intine liegt, wohl kaum mit einer Membran zu verwechseln sein dürfte,[1]) und dass zweitens die äussere Intineschicht erst in späteren Stadien der Exine ähnlich wird. Eine gewaltsame Spaltung der Exine ist somit ausgeschlossen.

Ehe ich zum Schluss meiner Arbeit die hauptsächlichen Ergebnisse noch einmal zusammenstelle, seien noch in wenigen Zeilen die reifen Sporen und ihr Verhalten nach der Aussaat in Erwähnung gebracht. Ich berichtete bisher noch nicht von den Versuchen, die ich an der Sporenhülle mit Osmiumsäure unternahm. Die Resultate, die ich bei Benutzung derselben erhielt, sind folgende. Bei den jüngsten Sporen wirkte die Säure überhaupt nicht ein. Vor der Reife derselben, während Exine und Intine noch getrennt sind, wird die erstere und die äussere Schicht der Intine tief schwarz gefärbt, die innere Intine nimmt hingegen nur eine graue Färbung an. Dieselben Ergebnisse erlangte ich bei Sporen, die längere Zeit ausgesäet waren. Bei der Exine besteht eine mittlere Zone, die sich intensiver färbt. Eine Vorherbehandlung mit Eau de Javelle, wie Zimmermann sie

1) Vergl. d. Fig. 4, 5, 6, 7 u. 10z.

anführt, ist nicht erforderlich; es ist also offenbar keine Gerbsäure in der Sporenhülle enthalten. Eine alkoholische Cyaninlösung lässt auch noch nach gründlichem Auswaschen mit absolutem Alkohol die Exine und äussere Intine tiefblau erscheinen. Beide Versuche sprechen deutlich für die Gegenwart von Cutin oder Suberin in der Sporenhülle; um so merkwürdiger ist es, dass man mit einer Alkannalösung oder einem Auszug von Chlorophyll, deren Wirksamkeit natürlich durch Controlversuche festgestellt worden war, selbst bei längerer Einwirkung nicht die geringste Roth- oder Grünfärbung erzielen kann. Möglicherweise ist auch hier in der Vorbehandlung des verwertheten Materials die Ursache zu suchen, dass eine Färbung durch diese beiden Mittel nicht erreicht werden konnte.

In den meisten Makrosporangien scheinen sich von den vier Sporen nur zwei normal zu entwickeln; doch fand ich auch eine, selten aber drei völlig ausgebildet. Bis zu dem Stadium, wo die Trennung zwischen Exine und Intine beginnt, scheinen sich alle vier Sporen gleichmässig zu entwickeln. Wenn man durch ein reifes Sporangium einen Schnitt führt, so findet man die Sporen, die zu Grunde gehen, noch in dem Entwickelungszustand an, in welchem sich die Exine von der Intine getrennt hat. Während der von der Intine umschlossene Raum in normalen Sporen mit Plasma und Proteïnsubstanzen ausgefüllt ist, erscheint er in den anderen völlig leer [1]). Sehr oft hängt bei diesen die Exine mit der Intine noch durch Verbindungsbalken zusammen. Die halbmondförmige, desorganisirte Masse habe ich bei den unentwickelten Sporen stets vorgefunden. Ebenso sieht man noch häufig Fetzen der Special-Mutterzellmembran an den Dornen der Exine haften. Nach der Aussaat habe ich bei den Sporen niemals eine Dickenzunahme der Exine bemerkt, dieselbe wird vielmehr durch die Volumenzunahme des Endospors gedehnt und dadurch wohl grösser, aber zugleich auch dünner.

Hauptsächliche Ergebnisse.

Die Makrospore wird endogen im Protoplasma der Specialmutterzelle gebildet.

Das Plasma innerhalb der Spore ist anfangs lückenlos.

Sobald es netzartig geworden ist, zeigt der grosse Sporenkern eine Vacuole und zwei Nucleolen, deren jeder wiederum ein Körperchen in sich führt.

Das Plasmanetz verschwindet im späteren Wachsthum. Das ganze Plasma wird wandständig und ist am Scheitel der Spore, wo nun

1) Vergl. Fig. 10.

mehrere Kerne auftreten und die ersten freien Zellen entstehen, dicker.

Gleichzeitig mit dem Auftreten von Proteïnkörnern findet die erste Zellwandbildung am Scheitel der Spore statt. Dieselbe schreitet von hier aus allmählich bis zur Basis der Spore vor, sehr häufig ist die ganze Spore schon vor ihrer völligen Reife mit Zellwänden ausgefüllt.

Die Anlage eines einzelnen Archegoniums wurde schon vor der Aussaat gefunden.

Bei den ausgesäeten Sporen findet nur noch durch tangential- und radial auftretende Wände eine Zellvermehrung statt. Die Archegonien werden jetzt in Mehrzahl angelegt. Ein Diaphragma habe ich bei meinen Beobachtungen niemals bemerkt.

Die Entwickelung des weiblichen Prothalliums von Sellaginella schliesst sich somit aufs engste derjenigen von Isoëtes einerseits, der der Coniferen andererseits an und entbehrt jedes Momentes, welches sie als eine abweichende Bildung erscheinen lassen könnte.

Die Bezeichnung „primäres“ und „secundäres“ Prothallium für verschiedene Zonen des Selaginella-Prothalliums sind als ungerechtfertigt zu verwerfen und ebenso sind die weiteren Hypothesen über die Entstehung der von Pfeffer beschriebenen Entwicklungsstadien (conf. Goebel, Grundzüge d. Systematik u. spec. Pflanzen-Morphologie pag. 318 Anm.) unhaltbar.

Exine und Intine gehen aus einer einzigen plasmaähnlichen Kugelschale der Spore hervor. Nach Trennung derselben wird die Intine zweischichtig.

Die doppelte Intine hat verschiedenartige Beschaffenheit. Gegen Tinctionsmittel und Reagentien verhalten sich die beiden Schichten verschieden.

Während des Heranreifens der Spore legt sich die Intine wieder an die Exine an.

Die cuticularisirte Exine zeigt noch längere Zeit ein kräftiges Wachsthum.

Nach der Aussaat nimmt dieselbe nicht mehr an Dicke zu.

Vorstehende Arbeit wurde in der Zeit von Ende August 1891 bis Anfang März 1893 im botanischen Institute zu Rostock ausgeführt. Am Schlusse derselben sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Falkenberg, der zum Gelingen der

Arbeit mir so oft seinen Beistand gelichen und durch Rath und That dieselbe förderte, meinen verbindlichsten und ehrerbietigsten Dank auszusprechen. Auch bin ich Herrn Professor Dr. Oltmanns für seine stets bereitwillige Hilfe zu aufrichtigem Danke verpflichtet.

Erklärung der Figuren.

Fig. I. Längsschnitt durch ein Makrosporangium von Selaginella brasiliensis. Die hinten liegende vierte Spore ist von dem Schnitt nicht getroffen: t Tapetenzellen, s zu Grunde gehende Mutterzellen, k Kern, m Makrospore. Vergrösserung 1 : 200.

Fig. II. Längsschnitt durch eine Makrosporen-Mutterzelle von Selaginella Martensii. In diesem Stadium ist nur eine einzige Sporenhülle vorhanden. Exine und Intine sind noch nicht von einander zu unterscheiden: n Makrosporenhülle, a Mutterzellmembran, b Special-Mutterzellmembran. Vergrösserung 1 : 1200.

Fig. III. Längsschnitt durch eine junge Makrospore.[1]) Exine und Intine haben sich differenzirt, die letztere besteht hier indessen noch aus einer gleichmässigen Schicht: A. p Plasmanetz mit Kern, e Exine, i Intine. B. p Plasmanetz, k Kern, r Nucleolus mit Körperchen, v Vacuole. Vergrösserung 1 : 535.

Fig. IV. Längsschnitt durch eine Makrospore von Selaginella lepidophylla. Exine und Intine trennen sich bei z. Die Intine ist noch nicht in zwei verschiedene Schichten differenzirt. Die Exine steht durch Radialstränge mit der Special-Mutterzellmembran in Verbindung. Zwischen diesen sind Lücken vorhanden, die dadurch entstanden sind, dass sich andere Stränge zurückgezogen haben: b Special-Mutterzellmembran, e Exine, i Intine, k Kern, p Plasma, c Verbindungsstreifen, c_1 ein solcher zerrissen, c_2 Lücke. Vergrösserung 1 : 700.

Fig. V. Längsschnitt einer Spore von Selaginella lepidophylla, mit Anilinblau und Fuchsin gefärbt. Die äussere und die innere Sporenhülle klaffen weit auseinander. Die Intine hat sich in zwei verschiedene Theile gesondert und hängt durch Verbindungsbalken mit der Exine in Zusammenhang: z Spalt zwischen Exine und Intine, w Verbindungsbalken. Der äusseren Intine liegt eine desorganisirte, halbmondförmige Masse (l) an. i innere Intine, i_1 äussere Intine.

Fig. VI. Längsschnitt durch eine Makrospore von Selaginella Martensii. Exine und Intine sind weit getrennt. Die halbmondförmige Substanz ist im Begriff, sich von der Exine abzuheben. Die Intine besteht aus zwei Schichten: i innere Intine, i_1 äussere Intine, l desorganisirte Substanz, k Kern mit Vacuole und Nucleolus, p Plasma, w Verbindungsbalken, z Spalt zwischen Exine und Intine. Vergrösserung 1 : 333.

Fig. VII. Längsschnitt durch eine Makrospore von Selaginella Martensii. Exine und Intine weit getrennt. Die letztere ist von wellenartiger Zeichnung und noch einschichtig: i Intine, p Plasma, l halbmondförmige Substanz, z Spalt zwischen Exine und Intine, k Kern mit zwei Nucleolen (p) und einer Vacuole (v). Vergrösserung 1 : 390.

Fig. VIII. Das Plasma ist wandständig geworden und umschliesst eine grosse Vacuole. Die Intine hat ihre Breite verloren und legt sich wieder der Exine an,

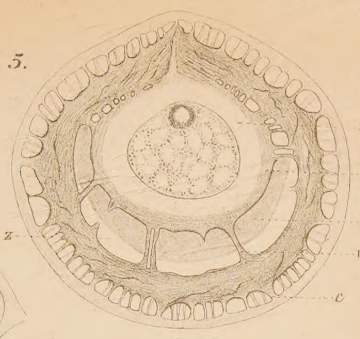
---

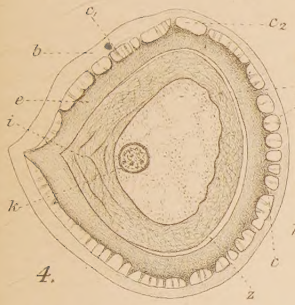
1) von Selaginella brasiliensis.

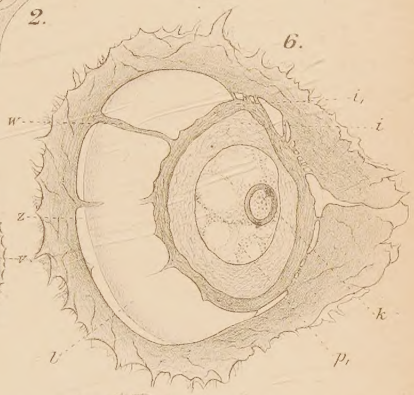
die beiden Schichten derselben sind kaum von einander zu unterscheiden. Das Plasma zeigt am Scheitel der Spore eine grössere Mächtigkeit, hier hat bereits freie Zellbildung stattgefunden. Wie die Figur zeigt, ist rechts unten in der Spore die Intine durch das Messer in die Vacuole hineingedrückt worden und hat sich umgelegt: e Exine, i innere Intine, i_1 äussere Intine, v Vacuole, k Kern. Selaginella Martensii. Vergrösserung 1 : 390.

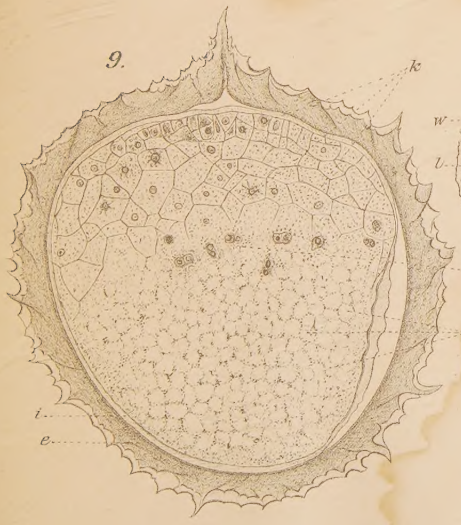
Fig. IX. Längsschnitt durch eine Makrospore vor der Reife. Die Proteïnkörner wurden durch Pepsinverdauung entfernt und man sieht daher das Plasmanetz: u die Zone, in welcher die grossen, bisquitförmigen Kerne (k) liegen. Unterhalb derselben sind keine Kerne vorhanden. Die Intine (i) ist nur noch ein dünnes Häutchen und liegt der Exine an. y Stellen, wo vor der Pepsinbehandlung die regellos zerstreuten Proteïnkörner gelegen haben. Selaginella Martensii. Vergrösserung 1 : 333.

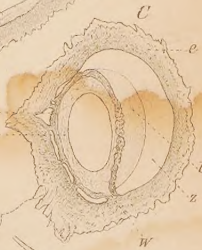
Fig. X. Längsschnitte durch Makrosporen von Selaginella lepidophylla, die in der Entwickelung zurückgeblieben sind. Sie waren mit reifen, normalen Sporen in demselben Sporangium eingeschlossen: e Exine, i innere Intine, i_1 äussere Intine, l desorganisirte, halbmondförmige Substanz, w Verbindungsbalken, b Fetzen der Special-Mutterzellmembran. Vergrösserung A 1 : 390. B u. C 1 : 200.











E. Heinsen del.

W.A. Meyn, lith. Inst. Berlin S.